

## 助成年度：平成3年度

[所属] 筑波大学 応用生物化学系  
[役職] 教授  
[氏名] 石塚 皓造 (他計3名)

[課題]

### 水田土壌中における芳香族塩素化合物からの脱塩素反応の検索と利用

[内容]

ベンゼン環に塩素が結合した芳香族塩素系と呼ばれる一群の化合物は、高い生物活性を有することから、農薬として多種のものが生産、利用されてきた。しかし、自然界ではこれらの農薬の脱塩素を伴う分解は極めておこりにくく、このことが長期残留性の要因となっている。ところが、近年わが国の水田土壌中において、芳香族塩素系除草剤ベンチオカーブが還元的に脱塩素されて分解している事例が見出された。この反応は微生物のもつ新規の反応として注目される。本研究はこの還元的脱塩素反応を日本各地の水田土壌において広く検索し、また、この反応の性質の解析を行って、難分解性農薬の分解促進のための基礎的知見を得ることを目的とした。

まず、ベンチオカーブからの脱塩素反応を室内実験で再現することを試みた。この除草剤の散布前歴をもつ山形、広島、山口各県農試の水田土壌を供試し、これらをつめた培養瓶を用いた試験により、ベンチオカーブの減少と脱塩素体の生成を確認した。滅菌処理した土壌では脱塩素がおこらないことから、微生物による分解と推定された。次に、塩素の置換位置が異なる除草剤の分解性を調べた。ベンチオカーブが環の4位に塩素をもつものに対し、2位に塩素をもつオルベンカーブでは分解がおこらなかった。この分解に関わる酵素は、ベンチオカーブのパラ位の塩素に特異的に作用するものと思われた。また、ベンチオカーブを連続して処理すると、処理回数の増加に伴ってその消失速度が急速に上昇することが明らかとなった。1回目の投与では、30ppmのベンチオカーブを分解するのに20~30日を要したが、4回目では3日でほとんどが分解された。

次に、日本各地の18の農業試験場の水田土壌を供試して、より単純な芳香族塩素化合物であるオルソクロロフェノールをモデル物質として脱塩素反応を追跡した。30日間におけるオルソクロロフェノールの分解速度は土壌間で顕著に異なった。しかし、これらの中から非常に大きな脱塩素活性を示す土壌がいくつか見出された。特に、岐阜、福井、千葉の土壌ではほとんどすべてのオルソクロロフェノールが脱塩素され、多量のフェノールが検出された。

農薬として用いられる芳香族塩素化合物では、ベンゼン環における塩素の結合位置が異なる場合がある。それらからの脱塩素反応のおこりやすさを測定するために、オルソクロロフェノール、メタクロロフェノール、および、パラクロロフェノールをモデル化合物として脱塩素の速度を比較した。供試した土壌は、上記のオルソクロロフェノールを用いた試験で比較的高い分解活性を示した千葉、新潟、石川、福井、愛知、岐阜、広島の7つとした。また、土壌の性質と分解活性との関係を明らかにするため、これらの土壌成分について、より詳しい化学分析を実施した。その結果、これらの水田土壌中におけるクロロフェノールからの脱塩素は、オルソ>メタ>パラの各異性体の順に起こりやすいことが明らかとなった。クロロフェノール類の減少に伴いフェノールが増加したが、これは、その後速やかに分解されることも明らかとなった。したがって、クロロフェノールの還元的分解の過程では脱塩素反応が律速段階であり、脱塩素が行われた後は、環の開裂を伴う分解も比較的速やかに起こるものと推定された。上記の7土壌の中でクロロフェノール類からの脱塩素活性がより高かった千葉、福井、新潟の各土壌は、高い全炭素、および、全窒素含量を有しており、これらの要因が分解活性を持った微生物の増殖と関連している可能性が示された。

土壌中におけるクロロフェノール類の分解活性の増強に関する知見を得るため、有機物、および、リン酸の添加の分解速度への影響を調べた。さらに、反復処理による速度上昇についても検討した。その結果、土壌へのデンプンの添加により、オルソクロロフェノールからの脱塩素が顕著に促進されることが明らかとなった。この時の酸化還元電位は無添加の場合と比べて低下していなかったことから、炭素量の増加に伴う分解促進は、還元状態を強化することによるのではなく、微生物の栄養源として利用されることによるものと考えられた。オルソクロロフェノールを添加してその分解活性を誘導した土壌に、それに比べて分解性の低いパラクロロフェノールを添加した場合は、未誘導の場合と比べて分解が大きく促進される結果となった。これらにより、有機物の添加や類似物質による分解活性の誘導で、難分解性異性体の分解活性を増強できる可能性が示された。

本研究で得られた結果は、水田土壌中に残留する芳香族塩素化合物の微生物による分解と、その反応促進技術の開発に有用な基礎的知見を与えるものと思われる。